

Pengaruh Jenis Asam dan Basa pada Pembentukan Senyawa Khitosan dari Limbah Kulit Rajungan

The Effect of Various Acid and Alkali Reagents to Production of Chitosan From Rajungan Husk

Oktafrina dan Eulis Marlina

Politeknik Negeri Lampung

Jln. Soekarno-Hatta No. 10 Rajabasa Bandar Lampung

ABSTRACT

The objective of this research was to known of acid and alkali effect to produced chitosan from rajungan husk. The implemented treatments were including deproteinization, demineralization and deasetylation treatments with several of acid and alkali. The deproteinization were conducted by 3-5 % NaOH and warm to 80°C than 2% HCl or H₃PO₄. Finally, chitosan produced by deasetylation with 30-40% NaOH. 100 gram substrates were produced 19% rendemen with deasetylation degree (DD) is 29,02%. Test of the chitosan at bakso and fish showed good condition until 48-50 hours. That is influenced by water activity of the materials.

Keywords : rajungan husk, deproteinization, demineralization, deasetylation, chitosan

Diterima: 12-02-2010, disetujui: 21-07-2010

PENDAHULUAN

Pada proses pengolahan makanan diperlukan *food additive*. Salah satunya adalah bahan pengawet sehingga umur simpan produk semakin lama terutama untuk produksi skala besar. Pengawet yang digunakan harus dipilih dan lebih baik jika pengawet tersebut berasal dari bahan alami karena lebih aman bagi kesehatan. Salah satunya adalah senyawa khitosan yang merupakan senyawa derivatif polimer khitin. Daya kerja antimikroba yang dilakukan oleh senyawa khitosan disebabkan oleh adanya polikation yang bermuatan positif dalam strukturnya. Menurut No *et al.* (2002)^a, mekanisme kerja khitosan disebabkan oleh struktur molekulnya yang mampu berikatan dengan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan khitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang.

Khitosan dapat diperoleh dari pengolahan limbah hasil laut yang telah mengalami reaksi deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi (Kurita, 1997). Senyawa ini cukup efektif jika digunakan untuk pengawetan hasil laut seperti ikan asin dan ikan kering. Namun bahan ini belum banyak tersedia sehingga perlu diupayakan proses produksi senyawa ini. Pembentukan khitosan melalui reaksi deproteinasi dan demineralisasi dengan penambahan asam dan basa kemudian dilakukan proses pemanasan. Namun kekuatan serta sifat kereaktifan pelarut asam dan basa akan mempengaruhi reaksi deproteinasi dan demineralisasi. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang

pengaruh jenis asam dan basa pada pembentukan senyawa khitosan dari limbah pengolahan rajungan yang dapat digunakan sebagai bahan pengganti senyawa formalin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis asam dan basa yang dipakai untuk reaksi deproteinasi dan demineralisasi pada pembentukan khitosan dari limbah pengolahan rajungan dan menentukan kondisi pemanasan pada reaksi deasetilasi pembentukan khitosan dari limbah pengolahan rajungan. Adanya pemanfaatan kulit rajungan untuk pembentukan senyawa khitosan dapat menjadi salah satu alternatif penanganan limbah. Selain itu, dapat dijadikan cara untuk memperoleh bahan pengawet alami yang relatif lebih aman untuk digunakan pada produk makanan.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental skala laboratorium dengan melakukan uji coba terhadap jenis senyawa asam dan basa untuk reaksi deproteinasi dan demineralisasi untuk membentuk khitosan dari kulit rajungan. Dengan variasi jenis asam dan basa yaitu asam mineral dan asam organik seperti HCl, H₂SO₄, H₃PO₄, HNO₃, asam asetat dan asam sitrat sedangkan untuk jenis basanya adalah NaOH dan NH₄OH. Kemudian dilakukan tahap reaksi deasetilasi dengan variasi suhu pemanasan yaitu 80, 90 dan 100°C.

Penelitian pendahuluan dilakukan terhadap pembentukan senyawa khitosan dari bahan baku udang dengan menggunakan asam mineral dan basa lemah dengan konsentrasi masing-masing 10% kemudian ditentukan rendemen senyawa khitosan yang terbentuk. Hal ini dilakukan untuk mengetahui rendemen khitosan dari bahan baku murni yang mengandung khitin tinggi seperti udang. Selain itu, dilakukan analisis proksimat terhadap limbah rajungan yang akan digunakan meliputi analisis terhadap komponen protein, lemak, kadar air, kadar abu dan serat. Analisis juga dilakukan terhadap kadar khitin dalam bahan baku kulit udang dan limbah rajungan.

Setiap hasil perlakuan asam dan basa akan ditentukan rendemen sehingga dapat diketahui larutan asam dan basa yang paling baik untuk reaksi deproteinasi dan demineralisasi pada pembentukan khitosan. Uji sifat fisik dan kimia senyawa khitosan meliputi organoleptik dan uji kelarutan dalam beberapa pelarut organik yaitu asam asetat dan asam sitrat. Selain itu dilakukan juga uji daya pengawet khitosan pada ikan dan beberapa produk olahan seperti bakso, ikan dan tahu yang disimpan selama 1 (satu) minggu. Dibuat larutan khitosan produk dengan variasi konsentrasi dari 1-5 %. Kemudian sampel ikan dicelupkan dalam larutan dan disimpan pada suhu ruang dan diamati setelah 1 minggu penyimpanan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat

Nilai gizi dari bagian tubuh jenis kepiting yang dapat dimakan (*edible portion*) termasuk rajungan mengandung protein 65,72%; mineral 7,5%; dan lemak 0,88% (Joachim dan Elke, 1997). Bagian yang tidak dimakan merupakan kulit dan pelindung yang sebagian besar mengandung senyawa khitin dengan ikatan yang kompleks sehingga memiliki struktur yang keras. Kulit rajungan yang keras inilah yang akan dimanfaatkan dan digunakan kembali untuk reaksi sintesis senyawa khitosan. Reaksi kimia akan lebih mudah terjadi jika luas permukaan lebih besar sehingga kontak dan tumbukan antar pereaksi/reagen akan makin maksimal. Untuk itulah dilakukan penggilingan kulit udang dan kulit rajungan sehingga menjadi tepung dengan derajat kehalusan sekitar 50 *mash*. Hasil analisis komponen kimia dalam tepung kulit rajungan dan kulit udang diperoleh data seperti pada tabel 1.

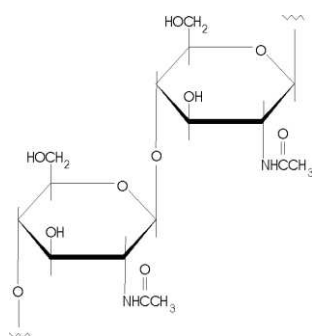
Tabel 1. Hasil analisis proksimat kulit rajungan dan kulit udang

Komponen kimia	Kulit rajungan (%)	Kulit udang (%)
1. Air	3,4	3,2
2. Abu	21,9	21,9
3. Serat	6,9	8,3
4. Lemak	2,1	1,1
5. Protein	53,7	58,8

Kulit rajungan merupakan bagian dari limbah pengolahan rajungan dengan jenis dan bentuk yang berbeda-beda. Berdasarkan data tabel 1 ternyata limbah ini cukup potensial untuk digunakan sebagai sumber protein mengingat masih tingginya kandungan protein didalam bahan tersebut. Biasanya limbah ini banyak digunakan untuk bidang peternakan yaitu sebagai campuran pakan ternak. Hasil analisis menunjukkan kedua bahan limbah ini memang masih mengandung senyawa protein yang tinggi sehingga akan diperlukan reaksi yang lebih lama untuk menghilangkan/memisahkan protein dari limbah tersebut. Untuk itulah reaksi deproteinasi memerlukan senyawa basa kuat dengan konsentrasi 1-5% dan dibantu dengan adanya pemanasan.

Pembentukan khitosan akan berlangsung melalui 3 (tiga) tahap yaitu reaksi deproteinasi, reaksi demineralisasi dan reaksi deasetilasi dimana setiap tahap akan dipengaruhi oleh kondisi tertentu. Komponen kimia yang akan berperan dalam pembentukan khitosan adalah senyawa polisakarida heteropolimer yang terikat dengan struktur yang sangat kuat. Ikatan ini merupakan ikatan kovalen dan ikatan ionik yang akan menyebabkan struktur kulit hewan-hewan hasil laut yang mempunyai cangkang akan memiliki kekerasan yang tinggi sehingga akan sulit untuk dihancurkan melalui perlakuan fisika ataupun reaksi kimia sederhana. Untuk itulah diperlukan reaksi hidrolisis dalam kondisi suhu yang tinggi sehingga akan menyebabkan struktur kulit hewan laut seperti udang dan rajungan akan hancur.

Khitosan merupakan senyawa derivatif dari khitin karena dapat disintesis hanya dari reaksi penghilangan gugus fungsi asetil dari struktur khitin. Reaksi ini disebut dengan reaksi deasetilasi. Reaksi ini dilakukan dengan adanya logam Na atau K. Struktur biopolymer ini terdiri dari 2 sampai 4 unit berulang dari 2-amino 2-deoksi β -D-glukosa, dapat dilihat dari Gambar 1.



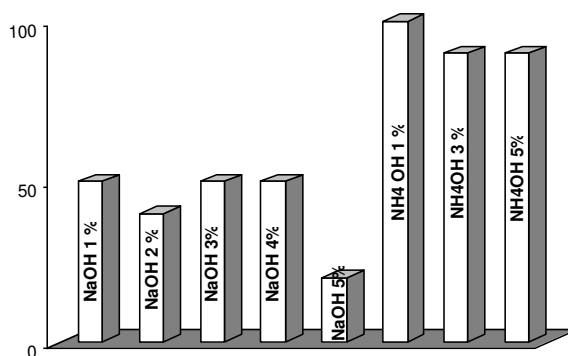
Gambar 1. Struktur kimia khitosan (Joachim dan Elke, 1997)

Reaksi Deproteinasi

Reaksi deproteinasi merupakan reaksi untuk menghilangkan senyawa protein yang terkandung didalam bahan kulit udang dan kulit rajungan. Protein terikat secara ikatan kovalen dan kandungan protein dari setiap jenis *crustacea* tidak sama sehingga akan mempengaruhi proses deproteinasinya. Reaksinya dapat dilakukan baik sebelum maupun sesudah reaksi demineralisasi. Efektivitas reaksinya

tergantung pada kekuatan basa yang digunakan. NaOH merupakan basa kuat yang banyak dipakai untuk reaksi hidrolisis protein dan pada pembentukan khitosan dari limbah kulit rajungan ini juga terlihat bahwa NaOH relatif lebih baik jika digunakan untuk reaksi deproteinasi pada sintesis khitosan.

Setelah reaksi deproteinasi selesai maka perlu dilakukan penetralan dan pencucian tepung kulit rajungan sampai pH netral. Penetralan tidak dilakukan dengan penambahan asam karena akan membentuk garam dan akan mengganggu produk khitosan yang diinginkan. Selama proses penetralan dan pencucian akan terjadi kehilangan sejumlah partikel khitin yang diinginkan. Partikel yang halus menyebabkan sulitnya dipisahkan saat proses pencucian. Hal ini akan mengurangi jumlah rendemen. Hasil pengamatan terhadap residu dari reaksi deproteinasi bisa dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 . Hasil pengamatan residu proses deproteinasi pada sampel dengan variasi basa

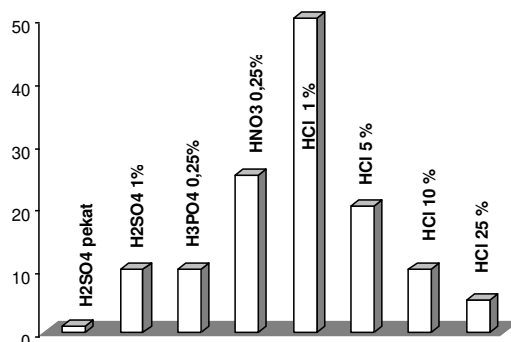
Residu proses deproteinasi merupakan komponen dari bahan baku yang telah mengalami hidrolisis protein menjadi molekul sederhana yang terlarut kedalam larutan basa. Residu mengandung senyawa khitin yang masih mengikat garam kalsium baik dalam bentuk kalsium karbonat maupun kalsium posfat. Untuk itulah, reaksi kemudian dilanjutkan dengan reaksi menghilangkan komponen tersebut yaitu reaksi demineralisasi.

Reaksi Demineralisasi

Reaksi pembentukan khitosan akan dilanjutkan dengan reaksi demineralisasi yaitu reaksi untuk menghilangkan komponen mineral seperti kalsium yang berada dalam bentuk senyawa garamnya yaitu kalsium karbonat dan kalsium pospat. Senyawa ini merupakan komponen mineral terbesar yang ada dalam bahan hasil laut terutama untuk hewan yang memiliki kulit atau cangkang yang keras seperti udang, rajungan, kepiting, kerang dan lain sebagainya. Pada saat proses demineralisasi akan terlihat adanya gelembung gas dan menjadi indikator untuk menurunkan kadar abu khitosan yang dihasilkan. Homogenisasi selama proses akan mempercepat proses sehingga gelembung akan hilang karena gas CO_2 yang terbentuk akan menguap. Setelah itu, dilanjutkan dengan reaksi penetralan dan pencucian terhadap reasidu. Pada tahap ini juga diperlukan penetralan sampai pH sekitar 6,8-7,2.

Proses penetralan dan pencucian hanya dilakukan dengan penambahan air dan tidak menggunakan larutan basa karena akan membentuk garam yang akan mempengaruhi khitin yang dihasilkan. Reaksi demineralisasi dilakukan dengan variasi larutan asam dan hasilnya juga berbeda. Kekuatan dan konsentrasi asam yang digunakan mempengaruhi reaksi eliminasi senyawa garam yang terikat pada struktur khitin. Hasil reaksi demineralisasi juga membentuk senyawa yang berbentuk flokulasi yaitu partikel padat yang tidak mengendap. Pemisahan partikel ini dilakukan dengan penapisan partikel dari larutannya. Reaksi demineralisasi dapat menghasilkan khitin dengan berat

molekul (BM) yang lebih rendah sehingga tidak membentuk padatan/residu yang mengendap. Hal ini akan mempengaruhi kadar khitin yang dihasilkan. Pengamatan residu hasil reaksi demineralisasi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3 . Hasil pengamatan residu proses demineralisasi dengan variasi asam

Kekuatan asam yang digunakan menyebabkan reaksi demineralisasi dan reaksi hidrolisis lanjutan terhadap senyawa khitin menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hal ini justru tidak diinginkan karena akan membentuk monomer-monomer sederhana yang tidak lagi membentuk khitosan. HCl 1-5% akan lebih baik digunakan untuk reaksi demineralisasi.

Reaksi Deasetilasi

Reaksi deasetilasi terhadap senyawa khitin merupakan tahap terakhir untuk pembentukan khitosan. Reaksi ini merupakan reaksi substitusi gugus asetil dengan bantuan Na atau K. Dari beberapa laporan hasil penelitian ternyata reaksi ini dapat juga dilakukan secara enzimatis yaitu dengan enzim *khitonase* yang dihasilkan oleh bakteri tertentu (Kurita, 1997). Khitosan mempunyai daya antimikroba yang cukup efektif dan dapat dipakai untuk produk pangan karena senyawa ini merupakan senyawa organik dan masih dapat didegradasi oleh tubuh kita. Berdasarkan struktur makromolekulnya yang mirip dengan polisakarida terutama selulosa sehingga khitosan dapat dipakai sebagai sumber serat makanan. Namun perlu dilakukan pengujian terhadap *bioavailability* sehingga diharapkan tidak disekresi melalui jalur mekanisme ekskresi urin karena dapat membentuk endapan pada ginjal.

Kadar air khitosan yang dihasilkan cukup baik dan dianggap memenuhi kadar air untuk khitosan yang diperdagangkan karena <10%. Kadar air rata-rata khitosan dari 3 ulangan yang dihasilkan dari perlakuan pemanasan dengan suhu 80 dan 100°C selama 2 jam seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Data hasil penentuan kadar air dan abu dalam khitosan hasil pengeringan pada suhu 80 dan 100°C

Sampel	Kadar air		Kadar abu	
	80°C	100°C	80°C	100°C
Khitosan udang	4,6%	2,5%	2,5%	2,0%
Khitosan rajungan	4,1%	3,7%	3,7%	3,2%
Produk Khitosan (chimikindo. corp.)	2,5%		1,05%	

Jumlah garam mineral yang dihilangkan dari hasil reaksi demineralisasi akan diketahui dari kadar abu khitosan yang dihasilkan. Kadar abu mempengaruhi kemurnian khitosan dan daya aktivitas antibakterinya jadi berkurang jika kadar abunya tinggi. Berdasarkan besarnya kadar abu yang >2% maka nilai tersebut masih tidak memenuhi standar sehingga dianggap reaksi demineralisasinya masih belum sempurna.

Derajat deasetilasi akan mempengaruhi komponen gugus fungsi pada struktur khitosan yang dihasilkan karena khitosan dengan derajat deasetilasi >70% akan bersifat mudah larut dalam asam encer dan menjadi indikator kemurnian senyawa khitosan yang dihasilkan. Rendemen yang tinggi ternyata tidak menjamin kualitas khitosan yang dihasilkan karena kualitas khitosan yang diharapkan akan lebih baik jika mempunyai derajat deasetilasi yang tinggi. Reaksi deasetilasi dilakukan dengan sederhana yaitu dengan penambahan basa kuat dengan konsentrasi tinggi. Pengadukan/homogenisasi selama proses akan mempercepat reaksi. Hasil reaksi deasetilasi adalah khitosan dengan variasi berat molekul karena kemampuan eliminasi gugus fungsi asetil yang terikat pada struktur khitin akan dipengaruhi oleh konsentrasi basa kuat yang dihasilkan. Reaksi deasetilasi berjalan secara stoikiometri sesuai dengan jumlah gugus asetil yang terikat pada struktur khitin (Kurita, 1997).

Jumlah rendemen khitosan tidak dapat menjamin kualitas khitosan yang dihasilkan. Reaksi deasetilasi dianggap sebagai reaksi untuk memurnikan khitin dari komponen organik lainnya yang masih terikat dalam struktur khitin. Khitosan yang terbentuk merupakan hasil dari reaksi eliminasi gugus-gugus asetil dalam struktur khitin. Kemurnian khitosan dapat diukur berdasarkan nilai derajat deasetilasinya dan makin besar nilai DD (derajat deasetilasi) maka makin murni khitosan yang terbentuk. Metoda analisis yang dipakai adalah dengan spektrometri infra merah. Nilai DD khitosan berada dalam kisaran 50-95% dan setiap proses pembentukan khitosan cenderung akan selalu memiliki nilai DD yang berbeda. Faktor utama untuk mendapatkan nilai DD yang tinggi adalah konsentrasi dan suhu yang digunakan. Selain itu, kondisi saat penetralan reaksi deproteinasi dan demineralisasi akan mempengaruhi rendemen khitosan yang diperoleh.

Aktivitas antimikroba khitosan dapat dipengaruhi oleh nilai DD dari khitosan yang digunakan karena makin tinggi nilai DD maka aktivitas antimikrobanya akan makin besar. Setelah reaksi selesai maka dilakukan juga penetralan dan pencucian khitosan yang terbentuk sampai pH netral kembali. Hasil akhir yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 50-80°C selama hampir 24 jam. Hasil ini akan mempengaruhi kadar air khitosan yang terbentuk karena kadar air akan menyebabkan penurunan daya sorpsi dan hidroskopis khitosan.

Khitosan berbentuk serpihan sampai serbuk yang agak berwarna sesuai dengan bahan baku (Gambar 4). Untuk khitosan yang dihasilkan dari bahan baku kulit udang terlihat berwarna agak kemerahan sedangkan dari bahan baku kulit rajungan berwarna agak kekuningan sampai putih. Hal ini juga akan dipengaruhi oleh reaksi dekolourisasi pada bahan baku sehingga pigmen warna dari bahan baku tidak ikut sampai ke produk akhir. Untuk menghasilkan khitosan dengan kondisi warna yang putih diperlukan tahap dekolourisasi.

Dalam larutannya, senyawa khitosan bermuatan positif dan hal ini berbeda dengan polisakarida alam lainnya. Menurut Allan and Hadwiger (1979) dalam Cahyadi (2006), adanya muatan positif (polikation) inilah yang akan berinteraksi dengan muatan negatif dari dinding sel mikroba dan kemudian akan merusak dinding sel sehingga akan menyebabkan lisis sel. Berdasarkan mekanisme inilah maka khitosan dapat dianggap sebagai antimikroba. Struktur kimia khitosan menyebabkan senyawa ini tidak larut dalam air. Dari hasil uji daya larut ternyata khitosan larut dalam asam organik encer seperti asam asetat dan asam laktat.



Gambar 4. Khitosan yang dihasilkan dari kulit udang dan rajungan

Kemampuan khitosan untuk mengawetkan suatu bahan disebabkan oleh adanya aktivitas antimikroba khitosan sehingga proses pembusukan bahan pangan dapat dihambat sampai tahap-tahap tertentu. Daya awet untuk produk-produk pangan yang diuji ternyata menunjukkan bahwa khitosan lebih efektif untuk produk dengan kadar air rendah. Selain itu, khitosan ternyata juga bersifat hidroskopik sehingga dapat menyerap air. Hal ini dapat dipakai untuk pengolahan ikan kering karena larutan khitosan bekerja dengan cara melapisi atau *coating* permukaan bahan. Namun dari hasil penelitian Dr. Endang Sri Heruwati dari FPIK-IPB dalam Cahyadi (2006) dinyatakan bahwa senyawa khitosan tidak dapat bersifat mengenyalkan bahan baku ikan yang diawetkan.

Khitosan merupakan senyawa yang bersifat non polar atau sedikit polar sehingga tidak dapat larut dalam air. Pelarut yang dapat digunakan adalah senyawa asam organik seperti asam asetat dan asam laktat. Namun konsentrasi asam yang digunakan cukup kecil yaitu 1-5% asam organik sudah dalam melarutkan khitosan. Pemilihan pelarut biasanya dipengaruhi oleh jenis bahan yang akan diawetkan. Asam asetat cukup efektif jika dipakai sebagai pelarut mengingat kelarutan khitosan lebih baik dalam asam asetat. Selain itu, harga asam asetat juga relatif lebih murah sehingga akan menurunkan biaya proses pengawetan jika akan digunakan untuk skala besar. Namun sifat fisik asam asetat tidak mendukung pada organoleptik bahan yang diawetkan karena berpengaruh pada aroma bahan terutama untuk produk olahan.

KESIMPULAN

Kekuatan basa dan asam berpengaruh pada reaksi deproteinasi dan demineralisasi pada pembentukan khitin dari limbah kulit rajungan. NaOH 1-5% cukup efektif untuk mendegradasi protein yang terikat pada lapisan khitin dan HCl 2% dapat dipakai untuk menghilangkan ion-ion pada gugus prostetik pada protein. Untuk 100 gram limbah kulit rajungan menghasilkan rendemen 19% dengan derajat deasetilasi (DD) = 29,02%. Uji daya simpan terhadap beberapa produk makanan dan ikan basah memperlihatkan bahwa konsentrasi khitosan 1% dapat mengawetkan produk selama 48-50 jam. Hal ini dipengaruhi juga oleh kadar air produk yang diawetkan.

SARAN

Proses reaksi deproteinasi dan demineralisasi memerlukan pengadukan yang merata sehingga tidak terjadi penggumpalan dan reaksi makin cepat. Perlu dilakukan pengaturan suhu saat deasetilasi karena kekuatan NaOH akan dipercepat oleh adanya peningkatan suhu sehingga akan dihasilkan khitosan dengan derajat deasetilasi (DD) yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia atas bantuan dana hibah Penelitian Dosen Muda DP2M 2006 dan kepada Kepala Laboratorium THP Politeknik Negeri Lampung atas izin tempat penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Begin A. dan Calsteren M.R.V. 1999. Antimicrobial films produced from chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 29: 63-67.
- Cahyadi W., 2006. Analisis dan aspek bahan tambahan pangan. Bumi Aksara. Jakarta.
- Chang, K.L.B. *et al.* 2003. The effect of chitosan on the gel properties of tofu (Soybean Curd). *Journal of Food Engineering*. 59: 315-319.
- No H.K., N.Y. Park., S.H. Lee, H.J. Hwang, S.P. Meyers, 2002b, *Journal of Food Science*, 67, 1511-1514.
- Lebskaya T.K. and Yu. F. D. 1997. Assessment of the chitin-rich fraction from kamchatka crab (*Paralithodes camtschatica*). *Chitin Handbook*. European Chitin Society. ISBN.88-86889-01-1. 495-499.